

RESISTENSI ISOLAT LOKAL *Escherichia coli* PEMBAWA GENA VT1 DAN VT2 ASAL BABI DAN DOMBA/KAMBING TERHADAP 6 ANTIBIOTIK

RESISTANCE OF LOCAL ISOLATES OF VT1 AND VT2 GENES-BEARING *Escherichia coli* FROM SHEEP/GOAT AND SWINE AGAINST 6 DIFFERENT ANTIBIOTICS

Nurul Azizah¹, M. Kenti Astuti¹, Doddi Yudhabuntara², Setyawan Budiharta²

¹Mahasiswa Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada

²Bagian Kesehatan Masyarakat Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan mengetahui perbedaan resistensi *Escherichia coli* pembawa gena VT1 dan VT2 hasil isolasi domba/kambing dan babi terhadap penisilin, ampicilin, amoksisilin, tetrasiklin, streptomisin, dan kloramfenikol. Sejumlah sembilan isolat *Escherichia coli* pembawa gena VT1 dan VT2 asal domba/kambing dan 23 asal babi diuji resistensinya terhadap keenam antibiotik menggunakan metode difusi disk yang tersedia secara komersial. Jumlah isolat resisten dan sensitif dari domba/kambing dan babi dianalisis dengan menggunakan statistik χ^2 . Hasilnya menunjukkan bahwa resistensi kedua asal isolat tidak berbeda secara bermakna ($P > 0,05$) terhadap penisilin ($\chi^2 = 0.244$), ampicilin ($\chi^2 = 0.035$), amoksisilin ($\chi^2 = 0.195$) dan kloramfeniol ($\chi^2 = 0$). Terdapat perbedaan resistensi yang bermakna ($P < 0.05$) terhadap tetrasiklin ($\chi^2 = 5.45$) dan streptomisin ($\chi^2 = 4.59$), dengan isolat babi resistensinya selalu lebih tinggi. Hasil ini dapat digunakan sebagai rekomendasi untuk pengobatan infeksi VTEC pada manusia dengan mengingat asal bakteri yang menginfeksi.

Kata kunci : VTEC, antibiotik, resistensi, domba/kambing, babi.

ABSTRACT

The objective of this study was to investigate the difference of resistance of VT1 and VT2 genes-bearing *Escherichia coli* isolated from sheep/goat and pigs against penicilline, ampicilline, amoxycilline, tetracycline, streptomycin and chloramphenicol. Nine isolates from sheeps/goats and 23 from pigs were subjected to the diffusion test against the 6 antibiotics. The results showed that there were no significant difference ($P > 0.05$) in resistance between isolates originated from sheep/goat and pigs against penicilline ($\chi^2 = 0.244$), ampicilline ($\chi^2 = 0.035$), amoxycilline ($\chi^2 = 0.198$), chloramphenicol ($\chi^2 = 0$). Significant difference is observed against tetracyclone ($\chi^2 = 5.45$) and streptomycin ($\chi^2 = 4.59$). Isolates from pigs consistently showed higher resistance than those from sheeps/goats. The results could be used as a recommendation for the treatment of human VTEC infection, considering the origin of the infecting isolate(s).

Key words : VTEC, antibiotics, resistance, sheep/goat, pigs.

PENDAHULUAN

Resistensi terjadi apabila pengaruh obat antiinfeksi terhadap kuman berkurang khasiatnya atau kuman tersebut tidak sensitif terhadap obat antiinfeksi. Resistensi merupakan kegagalan pengobatan suatu antibiotik pada dosis terapi (Gan, 1983 dan Brander *et al.*, 1991). Sifat resistensi merupakan suatu mekanisme alamiah untuk bertahan hidup. Mikroba yang sensitif terhadap suatu antimikroba dapat menjadi resisten. Kejadian ini dinamakan mutasi gena spontan karena terjadi tanpa pengaruh ada tidaknya antimikroba tersebut. Adanya antimikroba yang bersangkutan menyebabkan terjadinya seleksi, yakni galur yang telah resisten tetap mampu multiplikasi, sedangkan galur yang masih sensitif terbasmi, sehingga berakhir dengan terbentuknya populasi resisten (Anonim, 1995). Mutasi spontan juga dikenal sebagai resistensi kromosomal (Wattimena dan Sugiarto, 1991). Faktor yang menentukan sifat resistensi atau sensitivitas mikroba terhadap antimikroba terdapat pada elemen yang bersifat genetik. Didasarkan pada lokasi elemen untuk resistensi, dikenal resistensi kromosomal dan resistensi ekstrakromosomal. Sifat genetik dapat menyebabkan suatu mikroba sejak awal resisten terhadap suatu antimikroba (resisten alamiah). Beberapa mikroba tidak peka terhadap antibiotik tertentu karena secara alamiah tidak dapat diganggu oleh antibiotik tersebut. Hal ini disebabkan oleh tidak adanya target yang cocok atau dinding sel tidak dapat ditembus oleh antibiotik. Sebagai contoh adalah bakteri gram negatif yang resisten terhadap penisilin (Wattimena dan Sugiarto, 1991; Anonim, 1995).

Bakteri dalam keadaan istirahat biasanya tidak terpengaruh oleh antimikroba. Keadaan ini dikenal sebagai resistensi nirgenetik. Mikroba tersebut dikenal sebagai persisten. Bila berubah menjadi aktif kembali, mikroba bersifat sensitif dan keturunannya juga tetap bersifat sensitif terhadap antimikroba seperti semula. Hal ini merupakan masalah pada pengobatan lepra dan tuberkulosis (Anonim, 1995).

Resistensi silang adalah keadaan resistensi terhadap antimikroba tertentu yang juga memperlihatkan sifat resistensi terhadap antimikroba yang lain. Keadaan ini harus dibedakan dengan *multiple-drug resistance*. Pada resistensi silang sifat resistensi ditentukan oleh satu lokus genetik, sedangkan pada *multiple-drug resistance* resistensi ditentukan oleh lebih dari satu lokus dan biasanya berada dalam elemen ekstrakromosomal (plasmid, faktor R). Resistensi silang biasanya terjadi antara antimikroba dengan struktur kimia yang hampir sama seperti tetrasiklin dan derivatnya. Resistensi silang juga terjadi pada antimikroba dengan struktur berbeda tetapi mempunyai mekanisme kerja yang hampir sama misalnya linkomisin dan eritromisin (Anonim, 1995).

Mikroba dapat berubah menjadi resisten akibat memperoleh suatu unsur membawa faktor resisten. Faktor ini dapat diperoleh dengan cara transportasi, transduksi atau konjugasi. Dengan transportasi, mikroba menginkorporasikan faktor resistensi langsung dari media di sekitarnya (lingkungannya). Pada transduksi, faktor resisten dipindahkan dari suatu mikroba resisten ke mikroba sensitif dengan perantaraan bakteriofag. Peristiwa konjugasi ditentukan oleh suatu faktor langsung antara inti sel yang sedang berkonjugasi sehingga memungkinkan perpindahan berbagai komponen antarkuman, khususnya komponen pembawa faktor resistensi. Faktor resisten yang dipindahkan terdapat dalam 2 bentuk, yaitu plasmid dan episom. Plasmid merupakan suatu elemen genetik (DNA-plasmid) yang terpisah dari DNA kromosomal sehingga merupakan suatu DNA nirkromosomal. Plasmid yang dapat dipindahkan adalah faktor R atau plasmid penular (*infectious plasmid*) yang berperan dalam resistensi ekstrakromosomal (Jawetz and Melnick, 1986). Faktor R membawa sifat resistensi terhadap berbagai antimikroba sekaligus, misalnya sulfonamid, penisilin, kloramfenikol, tetrasiklin dan sebagainya. Faktor R ditularkan terutama di antara enterobakteri antara lain *Salmonella*, *Shigella*, *Vibrio* dan *Escherichia coli* (Anonim, 1995).

E. coli penyebab kolitis berdarah, sindrom uremia hemolitik, dan purpura trombopenik trombosis ditentukan oleh adanya VT1 dan VT2 di dalamnya. Dalam laporan terdahulu (Drastini *et al.*, 2002) telah diuraikan keberhasilan isolasi *E. coli* pembawa gena VT1 dan VT2 dari sapi perah, sapi potong, domba/kambing, dan babi. Adanya pola pemeliharaan yang berbeda antara domba/kambing di satu fihak dan babi di lain fihak, menimbulkan kemungkinan perbedaan pola resistensi isolat bakteri usus dari kedua golongan ternak ini terhadap antibiotik. Domba/kambing dipelihara secara tradisional, dan keduanya amat jarang mendapat kunjungan tenaga medik veteriner untuk pengobatan termasuk pemberian antibiotik (Sumiarto, 1994). Babi, sebaliknya, merupakan ternak yang diperlihara secara komersial, sehingga perhatian untuk mendapatkan jasa pelayanan medik veteriner merupakan suatu keharusan. Di samping itu, masih tersedia pakan babi yang mengandung promotor pertumbuhan yang biasanya berupa suatu antibiotik dengan dosis terbatas.

Penelitian ini bertujuan menyidik perbedaan resistensi *E. coli* pembawa gena VT1 dan VT2 yang diisolasi dari tinja domba/kambing dan yang berasal dari babi terhadap penisilin, ampicilin, amoksisilin, tetrasiklin, streptomisin dan kloramfenikol.

MATERI DAN METODE

Materi yang dipakai dalam penelitian adalah galur murni bakteri *Escherichia coli* pembawa gena VT1 dan VT2 hasil isolasi dari feses domba/kambing (9 isolat) dan babi (23 isolat) (Drastini *et al.*, 2002). Kertas disk antibiotik yang dipakai mengandung penisilin (10 µg), ampicilin (10 µg), amoksisilin (20 µg), tetrasiklin (30 µg), streptomisin (10 µg) dan kloramfenikol (30 µg); medium *Brain Heart Infusion* (BHI) (Oxoid, Ltd), *Sorbitol MacConkey Agar* (SMAC) (Difco, Laboratories) dan *Mueller Hinton Agar* (MHA) (Oxoid, Ltd) digunakan sebagai pembiak bakteri.

Pembuatan suspensi kuman

Bakteri biakan laboratorium ditanam pada media SMAC sebagai media selektif, kemudian diinkubasikan pada suhu 27°C selama 24 jam. Bakteri diambil 5 koloni, kemudian dimasukkan dalam 2 ml BHI dan diinkubasikan selama 24 jam pada suhu 37°C (Anonim, 1993).

suhu 37°C. Potensi antibakteri diketahui berdasarkan zona terang di sekitar disk antibiotik sebagai akibat dari tidak tumbuhnya bakteri (Anonim, 1993).

Pengukuran diameter zona terang

Diameter zona terang di sekitar kertas disk pada plat MHA yang telah diberi perlakuan diukur menggunakan jangka sorong/penggaris sebanyak 3 kali/ulangan pada posisi yang berbeda-beda. Kemudian dibandingkan dengan standar uji sensitifitas bakteri. Isolat dikatakan resisten jika diameter zona terang lebih besar dari standar dan sensitif bila kurang dari standar antibiotik yang bersangkutan (Mahon dan Manuselis, 1995).

Analisis data

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan *Chi-square* (χ^2) pada tabel 2 x 2 antar asal isolat (domba/kambing dan babi) dan resistensi isolat terhadap masing-masing antibiotik.

Tabel 1. Hasil analisis rerata isolat *Escherichia coli* pembawa gena VT1 dan VT2 domba/kambing dan babi terhadap penisilin, ampicilin, tetrasiklin, streptomisin dan kloramfenikol.

| Disk antibiotik | Spesies asal isolat | Jumlah | | χ^2 | df | P |
|-----------------------|---------------------|----------|----------|----------|----|-------|
| | | Resisten | Sensitif | | | |
| Penisilin (10 µg) | Domba/kambing | 9 | 0 | 0,244 | 1 | >0,05 |
| | Babi | 22 | 1 | | | |
| Ampicilin (10 µg) | Domba/kambing | 2 | 7 | 0,0356 | 1 | >0,05 |
| | Babi | 4 | 19 | | | |
| Amoksisilin (20 µg) | Domba/kambing | 2 | 7 | 0,198 | 1 | >0,05 |
| | Babi | 5 | 18 | | | |
| Tetrasiklin (30 µg) | Domba/kambing | 9 | 0 | 5,45 | 1 | <0,05 |
| | Babi | 11 | 12 | | | |
| Streptomisin (10 µg) | Domba/kambing | 8 | 1 | 4,59 | 1 | <0,05 |
| | Babi | 9 | 14 | | | |
| Kloramfenikol (30 µg) | Domba/kambing | 9 | 0 | 0,0000 | 1 | >0,05 |
| | Babi | 23 | 0 | | | |

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji resistensi kuman

Dengan menggunakan swab kapas steril, biak yang sudah diinkubasi diusapkan pada permukaan plat MHA. Pengujian dilakukan dengan kertas disk yang telah tersedia (penisilin, ampicilin, amoksisilin, tetrasiklin, streptomisin dan kloramfenikol) yang diletakkan pada media MHA yang telah ditanami bakteri, serta diinkubasikan selama 18-24 jam pada

Rerata diameter zona terang di sekitar kertas disk biak *Escherichia coli* asal domba/kambing pada penelitian berkisar antara 8,0-13,0 mm untuk penisilin, 17,0-21,0 mm untuk ampicilin, 9,0-21,0 mm untuk amoksisilin, dan untuk tetrasiklin, streptomisin dan kloramfenikol berturut-turut 22,0-27,0, 11,0-25,0 dan 19,0-32,0 mm, sedangkan rerata diameter zona terang

biak *Escherichia coli* asal babi berkisar antara 8,0-28,0 mm untuk penisilin 7,0-20,0 mm untuk ampicilin, 16,0-22,0 mm untuk amoksisilin, 0,0-26,0 mm untuk tetrasiklin, 0,0-21,0 mm untuk streptomisin dan 19,0-26,0 mm untuk kloramfenikol. Hasil analisis *Chi-square* terhadap rerata diameter zona terang tersebut dapat dilihat pada Tabel 1.

Penisilin aktif terhadap bakteri gram positif dan dengan sedikit perkecualian inaktif terhadap seberapa bakteri gram negatif. Penisilin lebih efektif pada saat bakteri melakukan multiplikasi yaitu mengganggu asimilasi dan konsentrasi asam glutamat dan mengganggu keseimbangan nukleotid pada sel bakteri. Lebih jauh diketahui penisilin mengganggu hasil metabolisme nukleotid dalam ketidakmampuan bakteri untuk membentuk dinding sel, sehingga bakteri akan lisis akibat perbedaan tekanan osmosis (Brander *et al.*, 1991).

Menurut Russel dan Quesnel (1983) penisilin menghambat sintesis dinding sel dan pembelahan sel bakteri gram negatif, dan diketahui bahwa *Escherichia coli* mengandung enzim yang peka terhadap penisilin yaitu enzim *transpeptidase* dan enzim *D-alanine carboxypeptidase*. Walaupun demikian sifat resistensi terhadap penisilin disebabkan target kerja yang melibatkan kerusakan dinding sel bakteri yaitu menghambat sintesis peptidoglikan. Membran dalam tersusun oleh peptidoglikan 1-10% dari dinding sel dan lipoprotein (Merchant dan Parker, 1996), sedangkan membran luar tersusun atas lipoprotein 30%, fosfolipid 20-25%, protein 40-45% (Mckane dan Kandel, 1996) yang berfungsi sebagai pertahanan terhadap lingkungan luar terhadap aksi antibiotik (Atlas, 1997) sehingga penisilin lebih sulit mencapai target kerja.

Kepekaan *Escherichia coli* pembagi gena VT1 dan VT2 terhadap ampicilin dan amoksisilin hampir sama. Ampicilin merupakan antibiotik berspektrum luas, baik secara *in vivo* maupun *in vitro* dan terhadap sejumlah besar bakteri gram positif dan gram negatif (Brandet *et al.*, 1991), termasuk yang patogenik pada usus, sehingga sering digunakan pada penyakit yang disebabkan oleh *Escherichia coli*, *Salmonella spp.*, *Proteus spp.*, dan *Klebsiella* (Russel dan Quesnel, 1993). Sedangkan amoksisilin mempunyai spektrum antibakteri yang sama dengan ampicilin dengan uji MIC (Brander *et al.*, 1991).

Kontomichalou *et al.* (1970) dan Jack dan Richmond (1970) melaporkan bahwa mekanisme resistensi terhadap ampicilin adalah dengan dihasilkan enzim β -laktamase yang disandi oleh gena dalam plasmid faktor-R. Faktor-R resisten obat telah ditemukan pada Enterobacteriaceae dan memiliki dua fungsi yang luar biasa, yang mengakibatkan induk semangnya resisten terhadap agen antibiotik dan pada saat yang sama memungkinkan bakteri untuk memindahkan resistensi ke bakteri lain (Meynell *et al.*,

1968). Cooksev (1991) melaporkan bahwa mekanisme resistensi yang berhubungan dengan permeabilitas membran, termasuk mutasi permeabilitas membran luar, umumnya disandi secara kromosomal sehingga cenderung lebih mantap apabila dikombinasikan dengan sifat resistensi yang disandi oleh gena pada plasmid.

Sifat resistensi *Escherichia coli* pembawa gena VT1 dan VT2 terhadap penisilin, ampicilin dan amoksisilin dapat dikatakan sebagai resistensi silang. Resistensi silang terjadi pada antimikroba dengan struktur kimia hampir sama, atau antara antimikroba dengan struktur yang agak berbeda tetapi mekanisme kerjanya sama (Gan, 1983).

Persentase resistensi bakteri terhadap streptomisin lebih tinggi dibandingkan pada tetrasiklin dan kloramfenikol. Hal ini sesuai dengan pendapat Brander *et al.* (1991), yang menyatakan bahwa resistensi organisme terhadap streptomisin dengan dosis mematikan berkembang cepat, karena adanya perpindahan resistensi atau adanya kerusakan terhadap galur peka. Menurut Russel dan Quesnel (1993) cara kerja streptomisin adalah dengan mengganggu permeabilitas membran sel bakteri. Menurut Katzung (1989) resistensi streptomisin tergantung atas produk adenilasi, fosforilasi atau asetilasi dari organisme. Galur peka yang berkembang menjadi resisten biasanya terjadi pada awal-awal minggu dilakukannya pengobatan (Brander *et al.*, 1991).

Perkembangan bakteri menjadi resisten terhadap tetrasiklin tidak secepat dan sekuat pada streptomisin. Resistensi terhadap kelompok tetrasiklin berlangsung lambat dan bertahap (Jones, 1957). Resistensi yang terjadi diakibatkan oleh perubahan permeabilitas selubung sel mikroba (Katzung, 1989). Mekanisme kerjanya yaitu dengan menghambat sintesis protein pada ribosom, caranya dengan menghambat pemasukan aminoasil t-RNA pada fase pemanjangan (Franklin dan Snow, 1985).

Resistensi terhadap kloramfenikol berkembang secara bertahap. Dari pemantauan klinik, perkembangannya tidak dapat diprediksikan selama pengobatan (Brander *et al.*, 1991). Hasil penelitian di atas membuktikan bahwa *Escherichia coli* sangat sensitif terhadap kloramfenikol. Dilaporkan oleh Coppoc (1996) penggunaan kloramfenikol menimbulkan efek yang sangat merugikan antara lain terjadi superinfeksi, hipersensitif, anoreksia, dan teratogenesis. Oleh karena itu, pengobatan dengan menggunakan kloramfenikol jarang dilakukan.

Mekanisme resistensi yang terjadi pada isolat *Escherichia coli* pembawa gena VT1 dan VT2 tidak diketahui secara pasti. Namun resistensi yang timbul kemungkinan ditentukan oleh gen-gen yang berlokasi pada plasmid. Katzung (1989) mengemukakan bahwa pada spesies bakteri gram negatif, yang sifat

resistensinya kemungkinan ditentukan oleh gena penyandi yang terdapat pada plasmid, terdapat mekanisme transfer resistensi yang umum yaitu secara konjugasi. Pada proses konjugasi terjadi transfer resistensi unilateral genetik antibakteri yang berlainan, sedangkan menurut Timoney *et al.* (1988), dan Brander *et al.* (1991) mekanisme prinsip resistensi terhadap antibiotik dapat terjadi melalui hidrolisasi obat secara enzimatis. Mekanisme alternatif adalah dengan penurunan akumulasi agen antimikroba. Dalam hal ini elemen genetik yang berperan adalah plasmid, transposon, dan kromosom.

Timbulnya penyebaran sifat resistensi pada isolat *Escherichia coli* pembawa gena VT1 dan VT2 asal domba/kambing dan babi yang dipelihara secara intensif, dapat dipengaruhi oleh pemberian obat sebagai tambahan dalam makanan, untuk meningkatkan angka konversi pakan. Penggunaan antibiotik sebagai tambahan dalam pakan hewan dapat menyebabkan timbulnya populasi bakteri resisten (Timoney *et al.*, 1988). Antibiotik yang dipakai secara terus-menerus, berperan penting dalam berlangsungnya mutasi dan seleksi yang dominan (Brander *et al.*, 1991).

Adanya bakteri yang resisten terhadap antibiotik, terutama bakteri yang dapat menyebabkan penyakit berbahaya pada manusia seperti VTEC O157:H7 yang dapat menyebabkan kolitis hemoragik dan HUS, dapat menjadi masalah bagi kesehatan masyarakat karena antibiotik tersebut tidak dapat digunakan baik sebagai pembunuh bakteri maupun sebagai obat bagi penderita. Untuk mencegah terjadinya penyakit yang disebabkan oleh bakteri yang resisten dianjurkan pada masyarakat untuk mengolah hasil produk hewan dengan sempurna dan selalu menjaga kebersihan dalam pengolahan (Hikmawati, 1999).

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, 1993. *Dasar-dasar Pemeriksaan Mikrobiologi*. Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Anonim, 1995. *Farmakologi dan Terapi*. Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia, Jakarta. hal.:574-576.
- Atlas, R.M., 1997. *Principles of Microbiology*. 2nd edition. W.M., C. Brown Publisher. United State of America. hal. : 63-64, 105, 109-111.
- Brander, G.C., Pugh, D.M., Bywater, R.J., and Jenkins, W.K., 1991. *Veterinary Applied Pharmacology and Therapeutics*. 5th edition, The English Book Society and Bailliere Tindall, London. Hal. :416-450.
- Coppoc, G.L., 1996. Chloramfenicol. Department of Basic Medical Science, School of Veterinary Medicine, Purdue University, West Lafayette.
- Cooksey, R.C., 1991. Mechanism of Resistance Antimicrobial Agents; in *Manual of Clinical Microbiology*. Edition in Chief : Ballows, A., editor ; Hausler, W.J. Herman, K.L., Shadony, H. J. *Am. Soc. Microbiol.* : 1099-1103.
- Drastini, Y., Asmara, W., and Budiharta, S., 2002. Isolation of VT1 and/or VT2 gene-bearing *Escherichia coli* from cattle swine, sheep and goat. *J. Vet. Sci.* XX (2).
- Franklin, T.J. and Snow, G.W., 1985. *Biochemistry of Antimicrobial Action*. 3rd ed. London, New York. Pp. 44-46, 127-189, 172-200.
- Gan, H., V.S., 1983. Antimikrobia. Dalam : Sulistia Gan (Ed). *Farmakologi dan Terapi*, Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia. Hal : 443-449.
- Hikmawati, F.A., 1999. Isolasi *Escherichia coli* yang Diduga Galur O157:H7 yang Resistensi Terhadap Ampicillin dari Feses Ayam. *Skripsi*, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Jack G.W. and Richmond M.H., 1970. A Comparative Study of Eight Distinct β -lactamase Synthesized by Gram Negative Bacteria. *J. Gen. Microbiol.* 61:43-61.
- Jawetz, E., and Melnick, J.L., 1986. *Mikrobiologi Untuk Profesi Kesehatan*. Diterjemahkan oleh Bonang, G., Edisi ke-16, ECG, Penerbit Buku Kedokteran Jakarta. Hal. : 143, 150-151.
- Jones, M.L., 1957. *Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. 2nd ed. IOWA State University Press, Ames, IOWA, USA.
- Katzung, B.G., 1989. *Farmakologi Dasar dan Klinik*. Edisi terjemahan Departemen of Pharmacology University of California. San Fransisco. Hal.: 451-461.
- Kontomichalou P. Mitani M. and Clowes R.C., 1970. Circular R. Factor Molecular Controlling Penicillin Synthetic, Replicating in *Escherichia coli* Under Either Relaxed or Stringent Control. *J. Bacteriol.* 101:232-239.

- Mahon C.R. and Manuselis, F. Jr., 1995. *Textbook Diagnostic Microbiology*. W.B. Saunders Company. Philadelphia. Hal. : 448-455.
- McKane, L. and Kandel, J., 1996. *Microbiology Essentials and Applications*. International Ed. McGraw Hill Inc. New York. Hal. : 71-73, 77-82.
- Merchant, I.A. and Parker, R.A., 1996. *Veterinary Laboratory Medicine, Interpretation and Diagnosis*. 2nd ed. W.B. Saunders Co.
- Meynell, E. Meynell, G.G. and Datta, N., 1968. Phylogenetic Relationship of Drug Resistance Factor and Other Transmissible Bacterial Plasmids. *Bact. Review*. 325: 55.
- Russel, A.D. and Quesnel, L.B., 1993. *Antibiotics: Assessment of Antimicrobial Activity and Resistance*. Academic Press Inc. United State of America. Hal. : 63, 161-164, 176.
- Sumiarto, B., 1994. A cross-sectional study of gastrointestinal nematode infections of sheep in Yogyakarta, Indonesia. *Thesis*. Department of Population Medicine, Ontario Veterinary College, University of Guelph, Canada.
- Timoney, J.T., Gillespie, J.H. Scott, F.W., and Barlough, 1988. Hagan and Bruner *Microbiology and Infectious Disease of Domestic Animals*. 8th edition. Comstock Publishing Associates. London. Hal. : 24-30.